

POLYPEPTIDE SYNTHETIQUE BIODEGRADABLE ET SON UTILISATION EN THERAPEUTIQUE

La présente invention a pour objet un polypeptide biodégradable hydro-soluble non toxique utilisable en biologie et pour diverses applications thérapeutiques, notamment pour servir de support à des médicaments, ceux-ci étant, ensuite, libérés progressivement dans l'organisme au fur et à mesure de la dégradation biochimique du polymère.

Depuis plusieurs années, on connaît des polymères biodégradables non-toxiques pouvant servir de réservoir de médicaments et permettant la libération progressive contrôlée de ceux-ci dans l'organisme lors de la dégradation du polymère porteur. On trouve des informations générales sur de tels produits dans l'ouvrage: "Fundamental Aspects of Biocompatibility" par D.F. WILLIAMS, CRC Press (1981). Voir aussi brevet USP 4,093,709.

Parmi ces polymères, on cite plus particulièrement les polypeptides synthétiques (polyaminoacides) dont la structure est voisine de celle des protéines. Ces polypeptides sont biocompatibles et leurs produits de dégradation (acides aminés) sont résorbables par l'organisme. Ainsi SIDMAN ET AL (J. MEMBR. SCI (1980), 7 (3),277-91) ont divulgué un copolymère d'acide glutamique et de γ -glutamate d'éthyle dont la vitesse de dégradation est fonction de la composition du copolymère (proportions molaires des segments estérifiés par rapport aux segments non estérifiés) et qui permet d'emmager de nombreux produits, par exemple médicaments anti-malaria, anti-cancer et autres. De tels polymères peuvent être utilisés sous forme de baguettes contenant, en mélange, le médicament désiré ou sous forme de capsules renfermant le médicament si celui-ci n'est pas miscible avec le polymère. Cependant, les polyglutamates et polyaspartates d'alcoyle (esters simples de ces polyacides) ne sont dégradables en temps utile (d'un ordre de grandeur compatible avec leur utilisation pharmaceutique) que sous forme partiellement hydrolysée (voir par exemple ASANO et al, J. Macromol. Sci. Chem. A21 (5) (1984), 561-582). Pour obtenir de tels polymères partiellement estérifiés, il faut soumettre ces polyglutamates ou polyaspartates à une réaction d'hydrolyse ménagée dont les conditions sont très difficilement reproductibles. Par ailleurs, de très faibles différences dans le degré d'hydrolyse influent considérablement sur la vitesse de biodégradabilité ultérieure ce qui constitue un problème additionnel dans l'emploi de tels polymères pour les buts précités.

Aussi, malgré l'intérêt que présentent les produits ci-dessus, on a

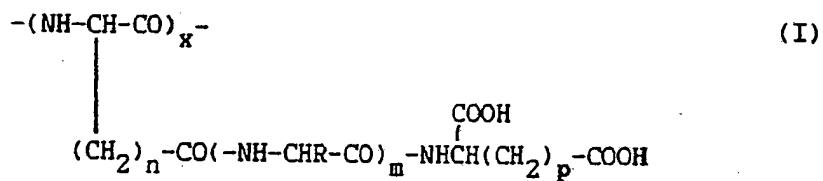
continué à chercher un produit de qualités améliorées et présentant notamment les propriétés suivantes:

1. Excellente solubilité dans la plupart des solvants inoffensifs courants convenant aux médicaments et même dans l'eau (en effet, les dérivés connus de polyaminoacides ne sont, en général, solubles que dans certains solvants spéciaux (DMF, pyridine, F_3CCOOH) dont l'emploi est incommodé pour les préparations pharmaceutiques).
thermoplastiques.

2. Contrôle amélioré du processus de dégradation. En effet, la vitesse de dégradation des polypeptides synthétiques connus est liée de façon stricte à leur structure chimique et notamment au taux d'estérification. Ainsi, dans un cas donné (voir, SIDMAN K.R., et al., PB 81-132136 NTIS (1980), p. 42) une variation du taux d'estérification de l'ordre de 10% fait passer la vitesse de dégradation de 1 au centuple (voir également la référence :SIDMAN citée plus haut), ce qui pose des problèmes pour la préparation d'échantillons reproductibles.

DEFINITION DE L'INVENTION

Le polymère de l'invention (et ses copolymères avec d'autres acides aminés) a permis de réaliser ces objectifs et d'autres encore, non moins importants, comme on le verra par la suite. Il s'agit d'un polypeptide estérifié de formule:



dans laquelle R est un reste d'amino-acide quelconque mais, de préférence, un hydrogène (glycine), méthyle (alanine), benzyle (phenylalanine), etc.. Cependant R peut également désigner des restes d'aminoacides comportant des fonctions OH, SH, NH₂ (correspondant à d'autres amino-acides), ainsi que -COOH (correspondant aux acides glutamiques et aspartiques), ce groupe carboxylique pouvant être libre, partiellement estérifié par un alcoyle inférieur ou totalement estérifié.

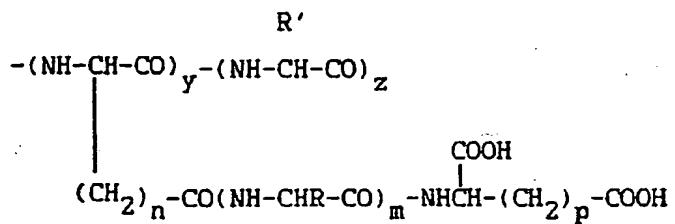
Dans la formule I qui précède, n vaut 1 ou 2, m est égal à 0 ou un

entier de 1 à 4, p vaut zéro, 1 ou 2 et x est tel que la masse moléculaire du polymère soit d'au moins 5000D. La liaison amide reliant le carbone latéral du polyacide et le reste de la chaîne latérale est dénommée liaison "isopeptide".

On voit, de par la formule I qui précède que, dans le cas où m égale zéro, le polymère est un dérivé de la polyglutamine et, notamment lorsque p vaut zéro, la poly- γ -malonylglutamine. Lorsque p vaut 1, on a la poly- γ -succinylglutamine et lorsque p vaut 2, la poly- γ -glutarylglutamine asymétrique.

Lorsque m est différent de zéro, la molécule comporte un chaînon mono- ou oligopeptidique intercalé entre le groupe CO de la polyglutamine et le groupe amino-substitué terminal. L'existence d'un ou plusieurs groupes peptidiques dans la chaîne latérale du présent polymère correspond à la présence d'un ou plusieurs sites d'attaque hydrolytique enzymatique conduisant à la dégradation du polymère en fragments résorbables par l'organisme dans lequel le polymère est incorporé. On peut donc, en jouant sur le nombre et le type des aminoacides constituant ledit chaînon, exercer un contrôle précis sur la vitesse de dégradation du polymère dans une application donnée. Parmi les aminoacides qu'on préfère pour constituer ces chaînons, on peut citer la glycine, lalanine, la phénylalanine, les acides aspartiques et glutamiques estérifiés ou non estérifiés, la leucine, la tyrosine, la méthionine et autres.

Le polymère de l'invention peut également se présenter sous la forme de copolymère avec d'autres polyaminoacides. Dans ce cas, on aura un copolymère de formule:



où R' est un reste d'acide aminé quelconque, non carboxylé ou carboxylé; dans ce dernier cas, les groupes COOH peuvent être libres, partiellement estérifiés ou totalement estérifiés, les groupes R' des unités $-(NH-CHR'-CO)$ pouvant être identiques ou différents dans la chaîne du copolymère, avec $y + z = x$, la valeur de x étant toujours choisie pour que le copoly-

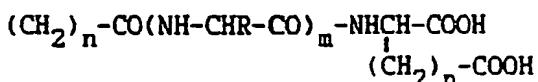
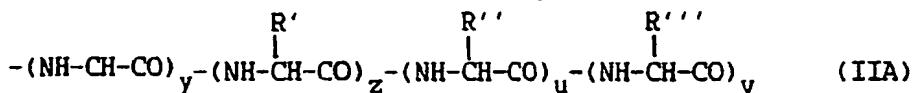
mère ait une masse moléculaire moyenne d'au moins 5000 D. La définition de R' peut donc correspondre à celle de R. En règle générale, on préfère pour R' avoir des groupements tels que, par exemple méthyle (alanine), isopropyle (valine), isobutyle (leucine et isoleucine), benzyle (phénylalanine), etc.. En principe, tous les autres acides aminés sont également possibles, quoique, pour des raisons évidentes, on n'ait pu les essayer tous. R' peut également désigner un reste d'acide glutamique ou aspartique non estérifié, ou estérifié partiellement par un alcool quelconque, par exemple MeOH ou EtOH, c'est-à-dire, par exemple, $-\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$ ou $-(\text{CH}_2)_n\text{-COOMe}$, n valant 1 ou 2. Il est à remarquer que si R' désigne un reste d'acide glutamique ou aspartique libre, on peut représenter le polymère par la formule I, mais en admettant que le degré de substitution (amidation du carboxyle) est inférieur à 100%; bien entendu, ce cas est également représentable par la formule II avec $R' = (\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$ et $y/(z+y)$ étant égal au degré de substitution.

On pourra également avoir, indifféremment, des acides aminés de la série L ou D. Les acides aminés de la série L (ou naturels) sont les plus intéressants car les polypeptides les contenant sont dégradables par les enzymes (protéases) du corps humain, alors que les polypeptides constitués d'unités D ne le sont pas. On peut mettre à profit cette différence grâce à des copolymères comprenant des aminoacides D et L, ceci afin de disposer de polymères dont la vitesse de dégradation est modifiée suivant un schéma préétabli.

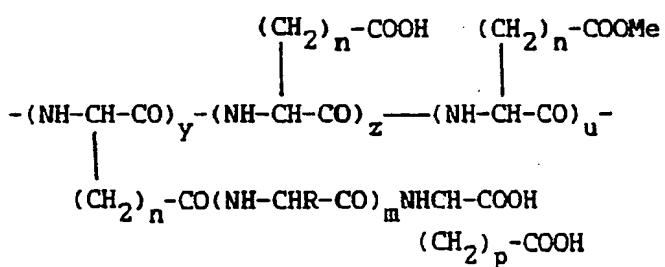
Revenant à des considérations plus générales, il faut noter que la proportion molaire, dans le copolymère II, de l'autre polyaminoacide libre ou partiellement estérifié permet également dans une notable mesure de régler la vitesse de biodégradation du copolymère en fonction des agents présents dans l'organisme au site de destination du mélange de copolymère et du médicament à administrer, (c'est-à-dire dans l'organe où le médicament doit agir). Ainsi, par exemple, si le copolymère est un copolymère de polyglutamine I et de leucine, on choisira la proportion molaire relative des deux constituants en fonction de la vitesse relative de dégradation, au lieu considéré, de la polyglutamine et de la polyleucine. En règle générale, le rapport z/y peut varier de 1 à 30, mais ces limites peuvent être dépassées si besoin est.

Bien entendu, dans le cas où le groupe R' ne désigne pas un groupe de nature unique dans la chaîne du copolymère, c'est-à-dire, par exemple lorsque l'un des R' désigne un reste d'acide aminé libre et qu'un autre R'

désigne un reste d'amino-acide estérifiée, on pourra, pour plus de commodité désigner les variantes de R' par les signes R'', R''' etc.. La formule générale d'un tel copolymère peut alors être schématisée comme suit:



où la somme des y, z, u, v, ..., etc est égale à x; u, v, etc. peuvent être bien entendu nuls si le reste désigné par R' est de nature unique. Un cas typique où le copolymère présente des R' et R'' distincts est celui où ces groupes désignent des restes d'acide glutamique et/ou aspartique estérifiés et non estérifiés, la formule schématique d'un tel polymère (dans le cas d'espèce, partiellement méthylé) se présentant comme suit:

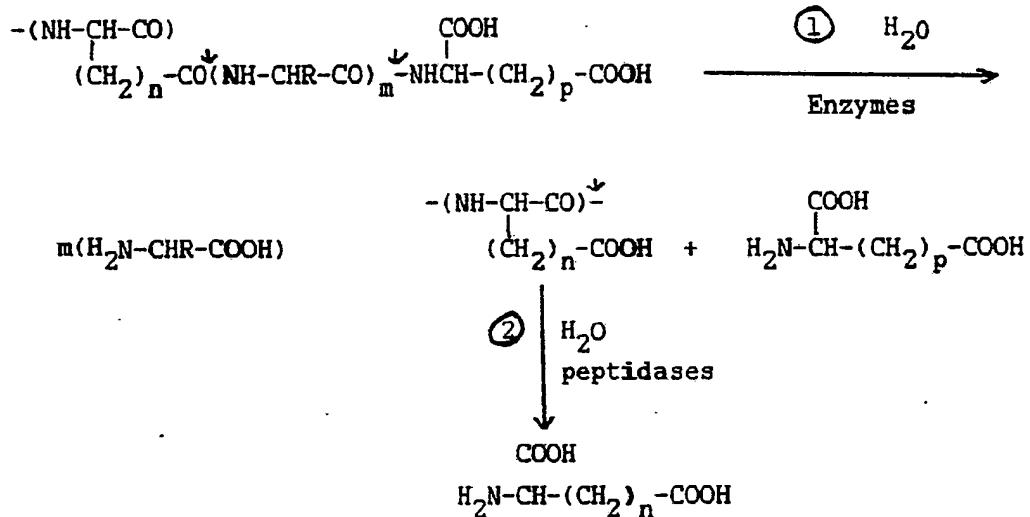


Il est bien entendu que, du point de vue isomérie optique, les polymères de l'invention peuvent comprendre des éléments de configuration L ou D ou des mélanges racémiques ou, encore, des polymères où une des configurations domine. Les propriétés biochimiques de ces divers assemblages ne sont, bien évidemment, pas identiques, les polymères où dominent les formes naturelles L étant plus accessibles à la dégradation enzymatique. On peut donc, comme déjà mentionné ci-dessus, en contrôler la dégradabilité en dosant, dans le copolymère les proportions relatives de l'une et l'autre forme.

Les polymères I et copolymères II sont solubles dans l'eau (même à pH acide, contrairement à l'acide polyglutamique) (à moins que les groupes COOH ne soient estérifiés) et généralement solubles dans un ou plusieurs

des solvants tels que le diméthylformamide, l'acide trifluoroacétique, l'acide dichloroacétique, le trifluoroéthanol

La biodégradation du polymère I peut être schématisée comme suit:



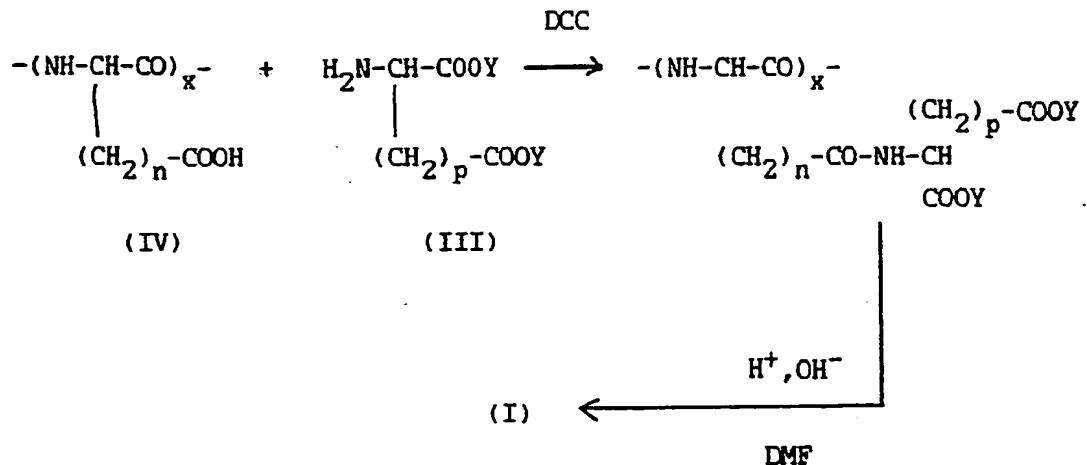
La réaction (2) est consécutive à la réaction (1) et, de ce fait, la biodégradation du polymère sera d'autant plus rapide que la vitesse d'hydrolyse de la chaîne latérale est plus grande.

Dans le schéma réactionnel ci-dessus, on a indiqué par des petites flèches les liaisons où se produisent les scissions par hydrolyse enzymatique (par exemple par la γ -glutamyltranspeptidase présente dans l'organisme); aussi, par une sélection appropriée des aminoacides constituant cette chaîne latérale, on peut, en fonction des conditions d'hydrolyse au lieu d'administration au polymère, régler sa vitesse de dégradation et, partant, celle de libération des médicaments qui lui sont associés. On pourra trouver une bonne illustration des propriétés d'hydrolyse enzymatique des peptides greffés dans la référence suivante: J. KOPECEK et al., Enzymatically Degradable Bonds in Synthetic Polymers dans Controlled Drug Delivery, Vol. I. basic concepts, CRC Press, page 81, (1983).

On peut préparer le polymère I et son copolymère II par diverses voies. Ainsi, par exemple dans le cas où $m = 0$ (absence de chaînons de pontage entre le carbonyle du polyacide et le groupe azote substitué de la glutamine) on fait réagir le polyaminoacide IV ou co-polyaminoacide correspondant désiré avec un aminomalonate, aspartate ou glutamate d'acrylique III (de tertbutyle, par exemple) en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) ce qui fournit l'ester correspondant du polyacide I ou II, ce dernier étant

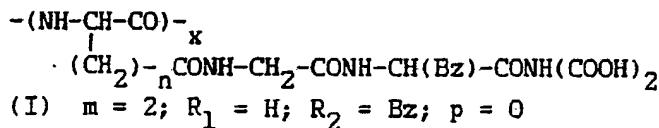
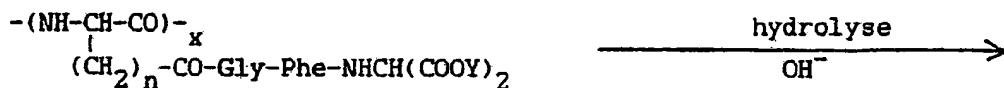
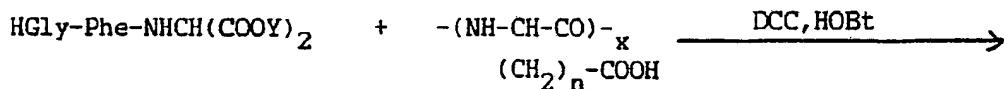
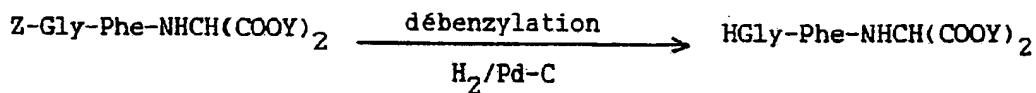
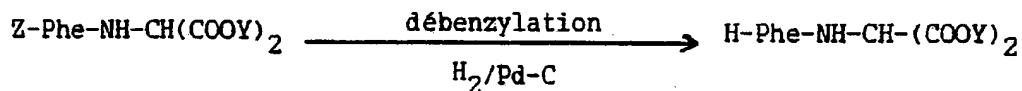
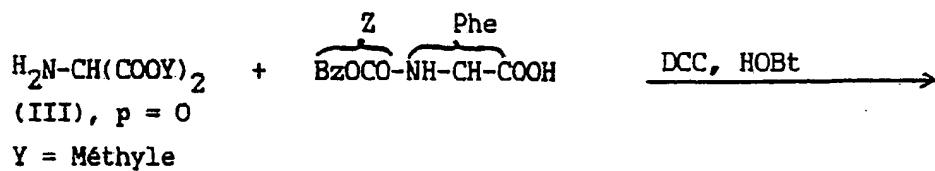
ensuite hydrolysé par les moyens habituels.

Le schéma réactionnel de cette voie de préparation figure ci-dessous. Dans ce schéma, le signe Y désigne un groupe ester, par exemple, méthyle, butyle, benzyle, etc...



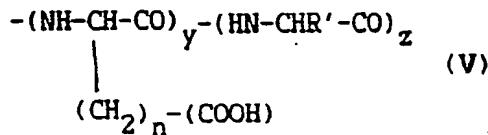
Dans le cas où on intercale un chaînon intermédiaire de pontage dans la chaîne latérale ($m \neq 0$), on peut, suivant une forme d'exécution, constituer d'abord cette chaîne latérale à partir du diester III, en y fixant, progressivement un ou plusieurs amino acides suivant les moyens habituels, puis relier cette chaîne au polyaminoacide comme dans le schéma ci-dessus.

On donne ci-dessous un exemple schématique d'un tel processus dans lequel le diester III dérive de l'acide amino-malonique et les chaînons intermédiaires dérivent, successivement, de la phénylalanine et de la glycine. On notera que pour ajouter ces chaînons intermédiaires, on protège la fonction amino de ces aminoacides par un groupe benzoxy carbonyl (Z) et on utilise, conjointement à la dicyclohexylcarbodiimide (DCC), de l'hydroxybenzotriazole (HOEt), un réactif permettant d'éviter les racémisations.

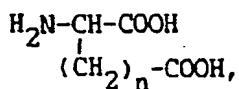


Suivant une seconde forme d'exécution, on peut procéder dans un sens inverse, c'est-à-dire, dans le cas d'exemple ci-dessus, faire réagir le polyacide de départ en présence de DCC avec la glycine (celle-ci ayant été préalablement estérifiée), éliminer le groupe ester protecteur, faire réagir le polymère ainsi obtenu avec un ester de phénylalanine, et ainsi de suite, jusqu'à obtention de la chaîne finale. Les étapes d'une telle forme d'exécution étant évidentes en soi pour l'homme de métier, notamment le spécialiste des synthèses peptidiques, il n'est pas nécessaire de les détailler plus avant ici.

Bien entendu, les techniques utilisées pour la préparation du polymère I conviennent identiquement dans le cas des copolymères II, la différence concernant simplement le choix du polyacide de départ, c'est-à-dire le remplacement du polyacide IV par un copolyacide correspondant, par exemple



Le polyaminoacide IV ou co-polyaminoacide V utilisé comme produit de départ pour la préparation du polymère I ou du copolymère II s'obtient facilement par les moyens habituels comprenant l'estérification par un alcool inférieur du carboxyle latéral d'un acide de formule



la transformation de l'ester en N-carboxyanhydride correspondant (NCA) par l'éthylène ou le phosgène en milieu dioxane ou THF, la polymérisation du NCA en polyaminoacide estérifié et l'hydrolyse du groupe ester protecteur en milieu alcalin ou par l'acide trifluoroacétique. De telles méthodes sont connues en soi (voir par exemple Encyclopedia of Polymer Science and Technology; N-carboxyanhydride, vol II, page 837). Lorsqu'on désire parvenir à un copolymère ou R' désigne un carboxyle latéral partiellement estérifié (R' = $-(CH_2)_n-COOH$ et R'' = $-(CH_2)_n-COOAlk$) on prendra soin que l'hydrolyse du groupe ester protecteur ne soit que partielle. Ainsi, par exemple, le produit de départ (V) qu'on mettra en jeu sera un copolymère d'acide $H_2N-CH[CH_2]_n-COOH]-COOH$ et d'ester $HN_2-CH[CH_2]_n-COOAlk]-COOH$.

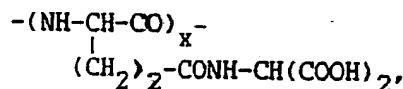
En raison de la présence, le long de la chaîne, de deux groupes carboxyliques, les polymères I et II peuvent fixer certains ions métalliques, tels le Ca^{+2} , plus fermement que les acides monocarboxyliques.

Une telle propriété se rencontre auprès de certains polypeptides naturels présents dans l'organisme, tels la prothrombine, le facteur Xa du sang, l'ostéocalcine des os et des cartilages; ces composés présentent des restes γ -carboxyglutamiques (Gla) susceptibles de lier le Ca^{+2} (voir J.P. BURNIER et al., Molecular and Cellular Biology 39 (1981), 191-199). En particulier, l'ostéocalcine présente une grande affinité pour l'hydroxyapatite et, quoique son rôle physiologique soit encore mal connu, elle joue probablement un rôle important dans le contrôle de la croissance osseuse.

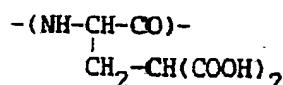
En ce qui concerne la prothrombine, celle-ci présente, dans sa molécule, dix restes Gla permettant à la prothrombine de se fixer, en présence de calcium, aux phospholipides constituants des membranes cellulaires. Dans

de telles conditions, la prothrombine présente la propriété de se convertir, en présence du facteur Xa, en thrombine laquelle provoque la coagulation du sang en catalysant la transformation de fibrinogène en fibrine. En l'absence des restes Gla la prothrombine perd toute activité.

Or, certains composés de l'invention, et notamment l'acide poly-(γ -malonylglutamique)



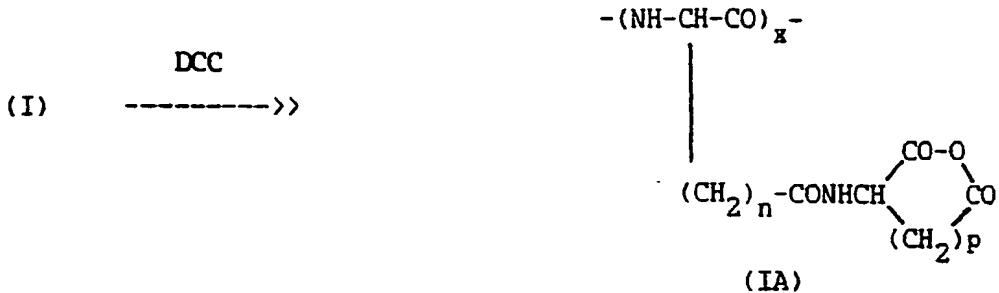
présentent une structure très similaire à celle des restes Gla



et des propriétés analogues.

Ainsi, ils sont utilisables pour la fabrication de prothèses d'os et de cartilages intégralement biocompatibles et biodégradables sans formation de résidus toxiques. On peut réaliser de telles prothèses par moulage de mélanges d'hydroxyapatite en poudre avec, comme liants, les polymères de l'invention, en tout ou en mélanges avec d'autres polymères biodégradables. On préfère utiliser, pour un tel but, des polymères I ou II dans lesquels $p = 0$. De telles prothèses sont mécaniquement très rigides, mais se résorbent progressivement au fur et à mesure de la régénération de l'os consolidé. Ainsi, l'intervention finale habituelle destinée à éliminer la prothèse après la guérison peut-elle être évitée.

Les présents polypeptides carboxyliques sont utilisables pour fournir des anhydrides cycliques, lorsque p est égal à 1 ou 2, par exemple par traitement des polyacides I ou II avec un carbodiimide tel que le DCC, comme indiqué ci-dessous:



Cette transformation a pour effet de fournir des polymères insolubles dans l'eau, mais solubles dans le nombreux solvants organiques usuels, tels que acétone, méthyléthyl cétone, THF, dioxanne, éthyl acétate, monoglyme et autres, ce qui permet leur transformation aisée en billes, bâtonnets, fibres, filaments, microcapsules etc... par les procédés d'extrusion, de coulage, d'évaporation etc. Par hydrolyse, les polymères IA, ainsi que leurs homologues IIA obtenus identiquement à partir de II, redonnent les polyacides I et II.

Les polymères et copolymères IA et IIA sont biodégradables et biocompatibles lors de leur utilisation pour le relargage lent et contrôlé de médicaments par exemple à partir de films minces préparés par coulée d'une solution de polymère et de médicament sur un support suivie d'un séchage par évaporation des solvants de la solution. De telles techniques sont décrites dans "Controlled Release of Macromolecules from Polymers" par R. LANGER et al., Biomedical Polymers, Ed. GOLDBERG et NAKAJIMA, Academic Press, 1980). Après séchage du film, le médicament peut se trouver à l'état dissous ou sous forme de suspension de particules.

Le polymère IA et le copolymère IIA sont utilisables comme réservoir de médicaments de diverses manières. Ainsi, par exemple, on peut employer les présents polymères IA et copolymères IIA pour fabriquer des microcapsules contenant un médicament. De telles microcapsules comprennent une membrane polymérique et contiennent une solution aqueuse ou huileuse dans laquelle le médicament est en suspension, ou en solution. On peut également fabriquer des microsphères, c'est-à-dire des particules solides ou billes contenant le médicament à l'état dispersé ou à l'état de solution solide dans la matrice de polymère. On peut également fabriquer des produits microporeux dénommés microéponges. En général, on pourra mettre en oeuvre, au moyen des présents polymères, toutes les techniques de fabrication de médicaments retard, c'est-à-dire ayant la propriété de relâcher (relarguer) le médicament de manière prolongée au fur et à mesure de la dégradation du

support. On trouvera une description de ces techniques dans les ouvrages suivants: "Biodegradables and Delivery Systems for Contraception", E.S.E. HAFEZ, MTP Press limited (1980); "Controlled Release Technologies = Methods, Theory and Applications" Vol. 1 et 11, A.F. KYDONIEUS, CRC Press (1980) et "Microencapsulation - New Techniques and Applications" par Tamotsu KONDO, Techno Inc. (1979) Japan. La solubilité des présents polymères dans de nombreux solvants, miscibles ou non à l'eau, est un avantage pour leur application selon les techniques décrites dans ces références. Il est également possible de préparer des fils constitués de ces polymères en extrudant une solution de ceux-ci dans une filière et en précipiter le fil, soit par évaporation, soit par un bain de non-solvant, selon les techniques habituelles de filage. Des filaments préparés ainsi peuvent être tricotés, noués ou tissés pour former des sutures, des ligatures ou des structures tubulaires pouvant servir d'artères artificielles, de veines, de conduits ou d'organes internes à fonctionnement temporaire. Les polymères de l'invention peuvent également servir, soit directement, soit en mélange avec un plastifiant, à la fabrication de films ou de prothèses chirurgicales servant, par exemple, à la consolidation d'os fracturés, comme des agrafes, des aiguilles, des vis, des plaques de renforcement, des tampons etc..., ces matériaux pouvant être réalisés par coulage ou moulage de solution, thermoformage ou par usinage de blocs de polymère solides. De telles prothèses étant résorbables, elles sont progressivement éliminées dans l'organisme et il n'est alors plus nécessaire de prévoir, comme on le fait actuellement, une nouvelle opération pour enlever le matériau de renforcement et de consolidation.

Les polymères et copolymères de l'invention sont également utilisables pour la préparation de pansements chirurgicaux biodégradables. De tels pansements sont constitués par une ou plusieurs couches successivement obtenues à partir de solutions de ces polymères dans un solvant déposées sur un support et solidifiées par évaporation ou séchage.

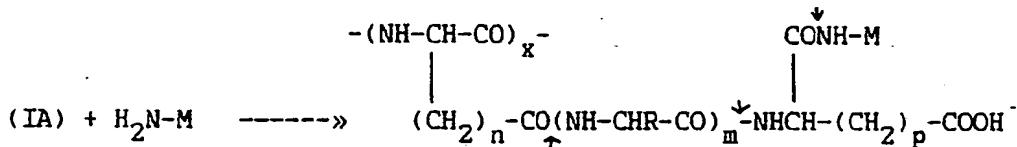
On peut par exemple constituer de tels pansements par coulées des solutions sur un support (ces solutions contenant, ou non, un ou plusieurs médicaments, par exemple un désinfectant) dans des conditions stériles, en éliminant le solvant, par exemple par la chaleur ou sous vide, puis en détachant ensuite le film insolubilisé du support et le séchant encore éventuellement avant emploi (ou en l'emballant de manière stérile si son utilisation immédiate n'est pas prévue).

De tels pansements sont constitués par une ou plusieurs couches suc-

cessives obtenues à partir de solutions de ces polymères dans un solvant hydrocompatible déposées sur un support et solidifiés par extraction à l'eau du solvant en question. Une telle extraction peut se faire par mise en contact avec de l'eau, par exemple par lavage ou immersion.

On peut constituer de tels pansements par coulées des solutions sur un support (ces solutions contenant, ou non, un ou plusieurs médicaments, par exemple un désinfectant) dans des conditions stériles, en traitant le tout à l'eau puis en détachant ensuite le film insolubilisé du support et le séchant éventuellement avant emploi (ou en l'emballant de manière stérile si son utilisation immédiate n'est pas prévue). L'avantage intrinsèque des polypeptides IA et IIA sur les polyalkyglutamates ou aspartates de l'art antérieur réside dans le caractère instable des fonctions anhydrides, ce qui permet d'assurer la dissolution/biodégradation du polymère sous sa forme hydrophobe d'anhydride.

Les composés anhydrides IA et IIA sont également utiles en tant que "vecteur de médicament" (drug vector) pour fixer, de manière covalente, des médicaments présentant une fonction réactive avec ce cycle (celle d'une enzyme, d'une protéine ou d'un polypeptide), par exemple une fonction amino, comme indiqué ci-dessous où M désigne la molécule d'un médicament à fixer sur le présent polymère:



Le polymère ainsi modifié par liaison avec le médicament M peut être en général manipulé comme décrit précédemment et administré de même, de façon qu'il agisse à son lieu de destination dans l'organisme. Une telle action pharmacologique pourra, dans certains cas être due au polymère ainsi modifié lui-même, mais, le plus souvent le médicament ne sera actif qu'après avoir été séparé, par exemple par hydrolyse, de son support. Dans le schéma ci-dessus, les flèches indiquent les liaisons susceptibles de se scinder par hydrolyse.

En ce qui concerne l'état de la technique dans ce domaine, on notera que le greffage de molécules pharmacologiquement actives sur des supports macromoléculaires solubles est connu; on trouve en particulier de nombreuses références sur les techniques de greffage mises en oeuvre et les avantages des produits qu'on en obtient, ceux-ci étant généralement appelés

"polymères pharmacologiquement actifs". On peut citer, par exemple, les ouvrages suivants traitant de tels sujets:

- Polymers in medicine Advances Polym. Science, No 57, Springer Ed. 1984,
- Polymeric Drugs, Ed. DONARUMA et VOGI, Academic Press, 1978).

Ainsi, ont été décrits des polymères pharmacologiquement actifs de type vinylique (acrylique) qui présentent le défaut majeur de ne pas être biodégradables. Par contre, on a greffé des substances pharmacologiquement actives sur des polysaccharides dégradables (Dextrane, par exemple) (voir, par exemple, HASHIDA et al; Drug Metab. Dispos. 12 (1984), 492-499).

On a également utilisé des polyaminoacides comme supports de médicaments, notamment en cancerothérapie, Ainsi, la poly L-lysine, a été utilisée comme support de médicaments anticancéreux (SHEN and RYSER, Molecul. Pharmacol. 16, (1979), 614-622). L'acide polyaspartique a également été employé (ZUNINO et al, Int. J. Cancer 30, (1982) 465-470) pour fixer de la daunorubicine. Par ailleurs, on a signalé l'utilisation de l'acide polyglutamique comme support de la noréthindrone (produit anticonceptionnel) (ZUPON et al, J. Pharmac. Science 72, (1983), 1323-1326) de même que comme base d'un médicament-cible antitumoral par sa conjugaison avec un anticorps (ROWLAND et al, Nature (Lond), 255 (1975), 487-488; WILCHEK, Makromol. Chem. Suppl 2 (1979), 207-214). Plus récemment, on a synthétisé de nouveau polymères antitumoraux à base de mitomycine C. ROOS et al., Int. J. of Pharmaceuticals 22 (1984), 75-87) en partant d'acide polyglutamique ou aspartique et de polylysine. De plus, KATO et al ont divulgué une méthode de couplage entre la daunomycine et un anticorps et leur fixation sur l'acide polyglutamique (J. Med. Chem. 27, (1984), 1602-1607).

On a également fixé l'adriamycine (médicament anticancéreux) sur l'acide polyglutamique (Van Heeswijk et al., Journal of Controlled Release 1, 301 (1985)).

On a, par ailleurs, souvent utilisé des copolymères d'anhydride maléique et d'un autre monomère vinylique pour des applications médicales. Ces polymères ont d'une part une activité pharmacologique intrinsèque après hydrolyse (c'est notamment le cas pour l'anhydride divinylether-maléique DIVEMA qui agit comme activateur de macrophages). D'autre part, sous la forme d'anhydride, ils sont capables de servir de supports de médicaments, notamment par réaction de la fonction anhydride avec un groupe R-OH ou R-NH₂ d'un principe actif à l'instar des anhydrides dérivés des polyacides de l'invention; HIRANO et al, Makromol. Chem. 180 1125 (1979). Ces polymères de l'état de la technique ont toutefois l'inconvénient de n'être pas

biodégradables et de s'accumuler dans les lysosomes, ce qui provoque à la longue une affection dénommée "Syndrome macromoléculaire" ou thesaurosis (W.C. HUEPER Arch. Path. 28, 510, 1939).

Les polymères de l'invention ainsi que les anhydrides correspondants peuvent être employés pour former des macromolécules solubles portant un principe actif et permettant un relargage lent de ce principe actif. On notera que, par rapport aux exemples connus de la technique décrits ci-dessus, ils présentent les avantages suivants:

- simplicité d'emploi (les agents intermédiaires de couplage sont inutiles)
- bonne solubilité dans l'eau même avec des taux de fixation élevés, en raison de la formation, lors de la réaction de fixation du médicament (couplage), d'un groupe -COOH (hydrophile).

Comme on l'a vu plus haut, les polymères I et II présentent un intérêt considérable en raison de leur pouvoir complexant (chélatant) vis-à-vis de certains ions métalliques, notamment le Ca^{+2} cette propriété étant due à la présence des groupements latéraux dicarboxyliques. Des groupes dicarboxyliques $-\text{CH}-(\text{COOH})_2$, susceptibles de chélater le calcium, font partie de l'acide γ -carboxyglutamique qu'on trouve dans certaines protéines humaines (voir J.P. BURNIER et al., *Gamma carboxyglutamic acid, Molecular and Cellular Biology* 39, 191-199, (1981), notamment dans les os et les cartilages.

Cette propriété de fixer le calcium, particulièrement développée dans le cas du dérivé aspartique (I, $p = 1$), rend les composés de l'invention particulièrement utilisés pour la fabrication de prothèses d'os et de cartilages entièrement biocompatibles et résorbables. Une telle prothèse peut par exemple être réalisée par moulage d'un mélange d'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en poudre et d'un liant constitué par le polymère ou copolymère de l'invention dans lequel p est, de préférence, zéro. Une telle prothèse, quoique de grande rigidité mécanique à l'application, se résorbe lentement au fur et à mesure de la régénération naturelle du membre consolidé et permet d'éviter l'intervention habituelle destinée à son élimination après consolidation définitive.

Les exemples qui suivent illustrent l'invention en détail.

Le dessin annexé est un graphique illustrant le pouvoir complexant du calcium des polymères suivant l'invention.

Méthodes générales de synthèse

On synthétise les polymères et copolymères de l'invention de la manière suivante: on prépare tout d'abord de l'acide poly-L-glutamique ou de l'acide poly-L-aspartique, de manière classique, par la méthode des N-carboxyanhydrides. (Voir par exemple la demande de brevet CH-5021/84).

D'une manière générale, on préfère partir, pour préparer l'acide polyglutamique de la N-carboxyanhydride du γ -benzylglutamate d'alcoyle (γ -benzylglutamate NCA) qui permet d'obtenir des polymères de hauts poids moléculaires. Le poly- γ -benzylglutamate ainsi obtenu est ensuite débenzylé par HBr dans le benzène pour donner l'acide poly-L-glutamique.

On préparera l'acide polyaspartique de la même manière, par polymérisation du β -benzylaspartate NCA et ensuite debenzylation du polyacide estérifié. Les poids moléculaires des polymères obtenus sont généralement plus bas dans le cas du polyaspartate que dans celui du polyglutamate.

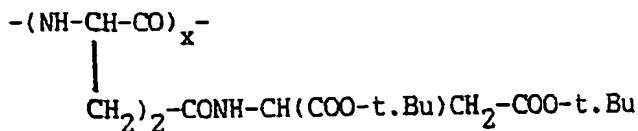
Exemple 1

Synthèse de poly-[γ -L-aspartyl-L-glutamine] et de son anhydride.

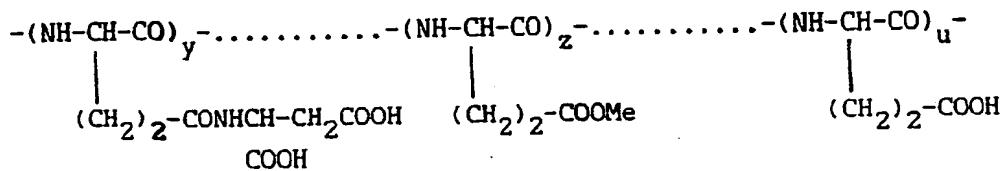
On utilise comme polymère de départ du poly[Glu(OMe)₂₀Glu(OH)₈₀], c'est-à-dire un polyacide représentable par la formule (V) dans laquelle R' = (CH₂)-COOMe, y = 0,8 et z = 0,2 (x étant bien entendu rapporté à l'unité). Ce copolymère est préparé par hydrolyse incomplète de poly[Glu(OMe)] dans l'acide trifluoroacétique aqueux (ce polymère comporte donc dans son squelette 20% d'unité glutamate de méthyle).

On dissout 3,8 g de poly[Glu(OMe)₂₀Glu(OH)₈₀] dans 30 ml de dimethylformamide (DMF) ce qui correspond à 23,04 mmole de groupes -COOH. On ajoute 25 mmole d'hydroxybenzotriazole (HOBT) à 8% d'H₂O, soit 3,67 g, puis 25 mmoles de di-t-butyl-L-aspartate.HCL, soit 7,04 g, ainsi que 6 ml de tributylamine (TBA) et 5,16 g de dicyclohexylcarbodiimide (DCC). On laisse sous agitation 20 heures à température ambiante puis on centrifuge le mélange. On lave le culot (dicyclohexylurée) avec du CHCl₃ (50 ml) et on ajoute l'extrait au surnageant. On ajoute encore à celui-ci 100 ml de CHCl₃ et on lave successivement cette phase avec H₂O (3 fois 100 ml), NaHCO₃ 1N (2 fois 100 ml), H₂O (100 ml), HCl 1% (3x100 ml) et H₂O (2x100 ml). On sèche le phase organique sur Na₂SO₄ et on la concentre à 40 ml. On rajoute 100 ml d'éther et d'hexane jusqu'à apparition d'un trouble et on verse le tout dans 550 ml d'un mélange d'hexane-éther de pétrole (35-45°) ce qui

provoque une précipitation. Le précipité est redissous dans 20 ml de CHCl_3 , on ajoute 100 ml d'éther, on filtre sur celite, on rajoute de l'hexane dans le filtrat, on précipite et on sèche le produit sous vide. On obtient 5,72 g de polymère dont la majeure partie, correspond à la formule:

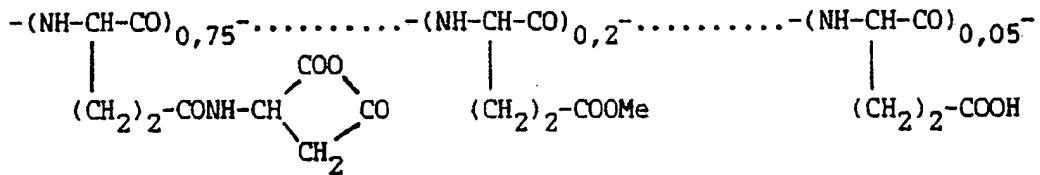


On dissout les 5,72 g de polymère dans 20 ml d'acide trifluoracétique (TFA) et on rajoute 40 ml de CHCl_3 , puis quelques ml d'acétone jusqu'à apparition d'un trouble. On verse cette solution dans 400 ml d'acétone sous violente agitation. On reprend le précipité fin obtenu dans 200 ml d'acétone + 200 ml d'éther, on filtre et on sèche. On obtient 3,68 g de polymère (IIA) (rendement = 90%), correspondant à la formule suivante (théorique):



Un échantillon de polymère est hydrolysé 12 h dans HCl 6N à 120 °C. Par analyse de la composition en acides aminés de la solution, on constate la présence de 3 moles d'acide aspartique pour 4 moles d'acide glutamique, ce qui permet d'attribuer les valeurs suivantes aux indices moléculaires: $y = 0,75$, $z = 0,2$, $u = 0,05$. Par ailleurs, le spectre RMN du polymère en solution TFA correspond bien à la structure proposée. Le produit ainsi obtenu est très hygroscopique et doit être conservé au dessicateur.

On dissout 0,927 g du poly[Glu(OMe)Glu(OH)Glu(Asp)] ci-dessus dans 10 ml de DMF et on ajoute 3 mmole de DCC. Après 20 heures sous agitation, on filtre et on ajoute au filtrat 30 ml d'éther. On verse ensuite ce liquide dans 350 ml d'éther et on ajoute au mélange 200 ml d'éther de pétrole ce qui occasionne la séparation d'un solide. On centrifuge et on sèche le culot ainsi obtenu ce qui fournit 0,73 g d'un polymère insoluble dans l'eau mais soluble dans le CHCl_3 . Le spectre IR de ce polymère confirme la présence de fonctions anhydrides ($\delta = 1800 \text{ cm}^{-1}$) et sa formule est donc



Exemple 2

Synthèse de la poly[γ -L-glutamyl-glutamine] et de son anhydride.

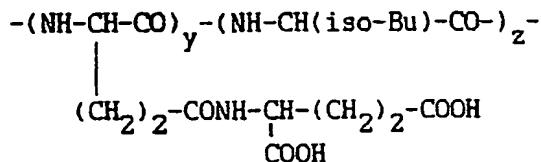
On dissout 2,5 g d'acide poly-L-glutamique (0,0192 moles COOH) dans 50 ml de DMF et on ajoute dans l'ordre 2,85 g d'hydroxybenzo-triazole 3,63 g de tributylamine 0,7 g de chlorhydrate de dibenzyl glutamate et 3,95 g de dicyclohexylcarbodiimide (DCC). On laisse 24 heures sous agitation à température ambiante. On filtre la dicyclohexylurée formée et on évapore le filtrat (40°C/1 Torr). Le précipité est redissous dans du chloroforme (50 ml) et lavé successivement avec NaHCO_3 0,1 N, H_2O , HCl 1% et H_2O saturée de sel (100 ml). On centrifuge à chaque lavage pour séparer les phases organiques et aqueuses. On sèche finalement la phase organique sur MgSO_4 , on filtre et on fait précipiter la solution par adjonction d'un excès d'éther. Le polymère est redissous dans du MeOH (20 ml), on ajoute de l'acide acétique (30 ml) et 5 ml d' H_2O ; on ajoute 2 g de palladium sur charbon actif et on fait barboter de l'hydrogène 15 heures dans cette solution. Après filtration du charbon actif, on dialyse la solution 3 jours dans l'eau distillée, puis on effectue une lyophilisation ce qui fournit 3,5 g de poly(γ -L-glutamyl-glutamine].

Le polymère peut être stocké sous sa forme diacide carboxylique ou on peut le cycliser de la manière suivante:

On dissout 1,44 g de ce polymère dans 200 ml de DMF et on ajoute 2,3 g de DCC. On laisse le tout 24 h en agitation; à 70°C on filtre la dicyclohexylurée (DCU) et on ajoute de l'éther ce qui fait précipiter le polymère. Le spectre IR d'un film mince de ce polymère, obtenu par dépôt d'une couche de sa solution dans le CHCl_3 sur une plaque de verre, montre la présence de la fonction anhydride (1 pic à 1830 cm^{-1}).

En procédant comme dans l'exemple 1 qui précède, mais en remplaçant l'acide polyglutamique par l'acide polyaspartique correspondant, on obtient la poly[γ -L-aspartyl-L-aspartaminel]. Celle-ci peut être cyclisée en anhydride correspondant par les moyens sus-indiqués.

De même, en utilisant comme polyacide de départ un copolymère 50/50 d'acide glutamique et de leucine, on obtient tout d'abord un copolymère de formule



où $y = z = 0,5$ avec $x = 1$, puis l'anhydride correspondant par les moyens sus-indiqués.

Exemple 3

Fixation de composés aminés sur les polyglutamine-anhydrides.

Les réactions suivantes ont été effectuées avec des polyacides de l'invention sous la forme d'anhydrides et certains acides aminés: On a ajouté goutte à goutte à des solutions des polypeptides dans le DMF des solutions aqueuses (ou DMF) des acides aminés. On a laissé sous agitation pendant 14 heures, après quoi on a salifié le polymère obtenu par $NaHCO_3$ N/10 et on a procédé à 24 h de dialyse dans H_2O suivie d'une lyophilisation. On a analysé des échantillons des produits obtenus (après hydrolyse dans HCl 6 N) pour déterminer le taux de fixation des acides aminés. Les résultats figurent au tableau ci-dessous. On peut remarquer d'après ces résultats que le taux de fixation dépend en partie de la solubilité des produits de départ dans le milieu réactionnel

Polypeptide anhydride	Composé aminé	milieu réactionnel	taux de fixation %
poly(Glu-glutamine)- anhydride	glycine methyl- ester	DMF (bonne solubilité)	75%
"	Alanine	DMF + H_2O	20%
poly(Asp(anh)glu- tamine	Glycine	DMF + H_2O (solu- bilité moyenne)	50%

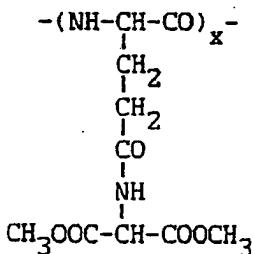
En général, il faut choisir comme milieu réactionnel un solvant où mélange de solvant tel que la réaction du groupe $-\text{NH}_2$ de la substance à fixer soit favorisée par rapport à celle de l'hydrolyse du cycle anhydride.

Exemple 4

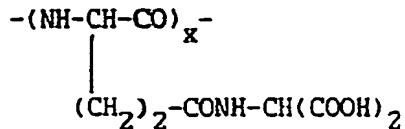
Poly[γ -2-(dicarboxy-1,3-propyl)glutamine]

Il s'agit du polyglutamide de l'acide 2-aminomalonique dont le nom, suivant la nomenclature IUPAC est poly[imino[1-oxo-2(1',3'-dicarboxy-2'-imino-carbonyléthylène)-éthylène]].

On dissout 5 g d'acide polyglutamique (PGA) dans 100 ml de DMF; on ajoute ensuite 7,16 g de tributylamine, 7,10 g de chlorhydrate d'aminomalonate diméthyle (0,0387 moles) et, 5,23 g d'HOBt. On refroidit vers 0°C et on ajoute 7,97 g de DCC dissous dans 20 ml de DMF. Après 24 heures on filtre et on précipite le polymère par adjonction d' H_2O . On redissout le solide dans de l'acétone et on reprécipite par l'eau. On redissout dans CHCl_3 et on sèche la solution sur MgSO_4 . On filtre sur gooch en verre fritté et on précipite par l'éther. On obtient 5,8 g de polymère estérifié ayant la formule suivante:



Le spectre RMN du polymère en solution dans l'acide trifluoracétique correspond à la formule ci-dessus. ($\delta = 3,15$ ppm, OCH_3). On ajoute le polymère (3 g) à 30 ml de KOH N/10 dans le MeOH. On ajoute ensuite 25 ml d' H_2O . Le polymère se dissout peu à peu. Après 17 heures, le pH est ramené à 7 et la solution est dialysée 1 jour dans H_2O puis HCl à 1%. On lyophilise le tout et on obtient ainsi 2,45 g du polymère de formule:

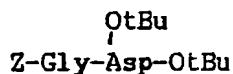


On mesure la proportion des amino-acides d'un échantillon après hydrolyse totale de celui-ci dans une solution HCl 6N (24 h) d'où on déduit que le taux de fixation du radical malonylamido est de 85%. L'analyse consiste à doser la glycine qui se forme, lors de l'hydrolyse, par décarboxylation du reste aminomalonique.

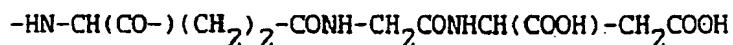
Exemple 5

poly-(γ -aspartyl-anhydride-glycine-glutamine)

On prépare tout d'abord le dipeptide de formule



par couplage classique à la dicyclohexylcarbodiimide de Z-Gly(OH) et de $H_2N\text{-Asp(OtBu)}_2$. Ce dipeptide est ensuite soumis à une debenzylation catalytique par l'hydrogène/palladium pour donner H-Gly-Asp(OtBu)₂. Ce peptide est cristallisé sous forme de sel de dibenzylsulfimide $(HN(SO_2\text{-Bz})_2$ dans l'éther. On le couple ensuite à l'acide polyglutamique comme décrit dans les exemples précédents. On filtre la DCU formée, on précipite le polymère dans $NAHCO_3$ 0,1N, on le lave avec H_2O et on le dissout dans du dioxane saturé d'HCl (4 N). Après 20 minutes, le polymère précipite. On évapore à sec et on dissout le produit dans un tampon carbonate pH 7. On filtre pour éliminer les parties insolubles et on dialyse le polymère contre H_2O pendant 24 heures, puis contre HCl 1% 24 heures. On lyophilise la solution et on obtient un polymère ayant la formule suivante:



Ce polymère est repris dans le DMF et, à la solution, on ajoute 1,5 équivalent de DCC. Après 24 heures de réaction, on filtre la DCU, on évapore le DMF et on redissout le polymère dans un minimum de choroforme. On filtre à nouveau pour éliminer les traces restantes de DCU, on précipite le polymère dans un mélange 50/50 éther/éther de pétrole et on sèche sous vide. Le

spectre IR d'un film de ce polymère obtenu à partir d'une solution dans l'acide trifluoroacétique montre la présence de groupements anhydride ($\lambda = 1830 \text{ cm.}$)

L'analyse des acides aminés résultant de l'hydrolyse totale du polymère montre que le taux de greffage est de 78% .

Exemple 6

Le but de cet exemple est de mettre en évidence le pouvoir complexant de divers polymères suivant l'invention vis-à-vis des ions calcium.

On a introduit dans une série d'enveloppes de dialyse (boyaux) des portions de 1 ml de solution aqueuse contenant du Ca^{+2} radioactif 100, μl de $^{45}\text{Ca} 10^{-3}\text{M}$ et des quantités variables de divers polymères suivant l'invention (ainsi qu'un contrôle). Les polymères étudiés étaient: acide polyglutamique (contrôle A); poly-(malonyl-glutamine) B; poly-(aspartylglutamine) C; poly-(glutaryl-glutamine) D.

On a placé ces enveloppes dans 7 ml de tampon phosphate à pH 7,5 et on a laissé la dialyse s'effectuer jusqu'à l'équilibre (24 h); on a mesuré au moyen d'un compteur à scintillation les concentrations de calcium dans le tampon de dialyse, à l'extérieur de la membrane, et dans la solution dialysée à l'intérieur de la membrane. On a ensuite déterminé le rapport (%) entre le calcium lié au polymère par rapport au calcium total. Les résultats sont rassemblés au graphique annexé en fonction (abcisse) de la quantité de polymère exprimée en mMoles/l de restes porteurs de groupes carboxyliques, et montrent que l'acide polyglutamique n'a qu'un pouvoir de fixation du calcium très limité par rapport aux polypeptides dicarboxyliques de l'invention.

Exemple 7

Cet exemple est destiné à montrer que le dérivé poly(γ -malonylglutamine) se lie en présence de Ca^{+2} , aux surfaces lipidiques comme le fait la prothrombine - (voir par exemple S.P. BAJAJ et al., Journal of Biol. Chemistry, 250(6), 2150-2156 (1975)).

On a opéré de la manière suivante:

On a préparé tout d'abord une suspension de liposomes en dissolvant 250 mg de lécithine dans 36 ml de CHCl_3 , en ajoutant 10 ml de tampon (20 mM

Tris, HCl + 40 mMol NaCl, pH 7,5) et en soumettant ce mélange aux ultrasons à 50°C. Après évaporation du CHCl₃, on a rajouté 30 ml de tampon, on a ajusté le volume total à 40 ml et on a centrifugé 1/2 heure à 60000 rpm. On a repris le culot dans 41,6 ml de tampon ce qui a fourni une suspension de liposomes à 6 mg/ml.

On a introduit ensuite dans une série de tubes à essai des solutions aqueuses 10 mM en ions Ca contenant chacune 2 mg/ml de liposomes et des quantités croissantes (de 0,025 à 1 mg/ml) de poly(γ -malonylglutamine) marquée au ¹⁴C. (Pour marquer la poly(γ -malonylglutamine), on a fait réagir celle-ci avec du glycinate de méthyle radioactif ¹⁴C en présence de EEDQ, (2-éthoxy-1-éthoxy-carbonyl-1,2, dihydroquinoléine) de manière à substituer environ 1% des restes maloniques par le glycinate et obtenir ainsi une activité spécifique de 37000 dpm/mg (désintégrat/min) de polymère.

Après 30 minutes, on a centrifugé les liposomes et on a mesuré ensuite la radioactivité présente dans le surnageant, cette quantité caractérisant le pourcentage de poly(γ -malonylglutamine) non fixé par les liposomes.

Le tableau suivant rassemble les résultats obtenus:

No tube	polymère (mg/ml)	Ca ⁺⁺ (mM)	liposomes (mg/ml)	% polymère non fixé
1	1	10	0	95,7
2	0,025	0	2	92,0
3	0,025	10	2	5,0
4	0,05	10	2	21,8
5	0,1	10	2	48,2
6	0,25	10	2	76,3
7	0,5	10	2	84,4
8	0,75	10	2	90,0
9	1	10	2	92,2

Ces résultats montrent que 1 mg de liposomes fixe 0,5 mg de poly(γ -malonyl glutamine) en présence de calcium. On voit aussi (essai No 2, qu'en l'ab-

sence de Ca^{+2} , il n'y a pas de fixation du polymère sur les liposomes. Le comportement de ce polymère, dans les conditions susmentionnées, est donc analogue à celui, naturel, d'une protéine du sang.

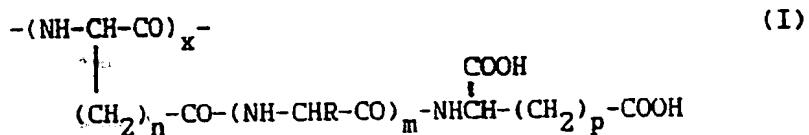
Exemple 8

Les polymères suivants: -poly(γ -glutamylglutamine); -poly(γ -aspartyl-glutamine); -poly(γ -malonylglutamine) ont été dissous dans une solution NaCl isotonique à pH 7,4 (0,01 M phosphate) à une concentration de 100 mg/ml.

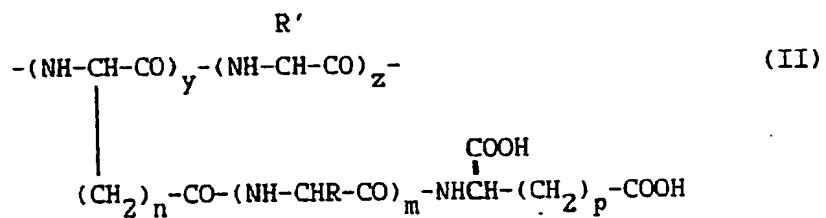
Les solutions ont été injectées i.p. à des souris blanches (25-30 g) jusqu'à une dose de 2000 mg/kg (5 tests par dose). Après une période d'observation de 4 semaines, on n'a constaté aucun effet létal sur les animaux d'expérience, et ceci jusqu'à la dose de 2000 mg/kg.

REVENDEICATIONS

1. Polypeptide carboxylé hydrosoluble biodégradable dérivé des acides polyaspartique et/ou polyglutamique de formule



et ses copolymères, avec d'autres acides aminés, de formule



où les groupes R et R', identiques ou différents, sont des restes d'amino-acide, ceux d'entre-eux comportant un groupe COOH pouvant être libres ou partiellement ou totalement estérifiés; m est un nombre entier de 0 à 5, p est égal à 0, 1 ou 2, n vaut 1 ou 2 et x qui est égal à y + z est choisi pour que la masse moléculaire du polypeptide ne soit pas inférieure à 5000 D.

2. Polypeptide suivant la revendication 1, caractérisé par le fait que R est choisi parmi les restes méthyle, éthyle, isobutyle, phényle et benzyle.

3. Polypeptide suivant la revendication 1, caractérisé par le fait que, les chaînons intermédiaires d'indice m sont choisis parmi les amino acides suivants: glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, phénylalanine, tyrosine, sérine, cystéine, méthionine, lysine, arginine.

4. Polypeptide suivant la revendication 1, caractérisé par le fait que l'ossature du composé I est choisie parmi les acides polyglutamiques et aspartiques et que l'ossature du composé II est choisie parmi les copolymères des acides glutamique et /ou aspartique avec un ou plusieurs autres

acides aminés choisis parmi l'alanine, la leucine, la valine et la phényalanine.

5. Polypeptide suivant la revendication 1, caractérisé par le fait que le copolymère II est choisi parmi les copolymères des polyglutamines ou aspartamines I avec, comme co-monomères, respectivement, l'acide glutamique et/ou les glutamates d'alcoyles inférieurs et l'acide aspartique et/ou les aspartates d'alcoyles inférieurs.

6. Polypeptide suivant la revendication 1, caractérisé par le fait que les groupes carboxyliques sont salifiés par des cations métalliques alcalins ou alcalino-terreux, par des amines primaires, secondaires ou tertiaires ou qu'ils sont sous forme d'anhydrides cycliques.

7. Utilisation du polypeptide I et ses copolymères II suivant les revendications 1 à 6 comme réservoir de médicament à effet retard dans l'organisme, ce dernier étant progressivement libéré à son lieu de destination consécutivement à la biodégradation du polymère porteur.

8. Utilisation suivant la revendication 7, caractérisée par le fait qu'on mélange ledit médicament et ledit polymère de façon homogène et qu'on façonne ce mélange sous une forme pharmaceutiquement acceptable.

9. Utilisation suivant la revendication 8, caractérisée par le fait qu'on plastifie le polymère par un plastifiant, notamment un polyalcoylène glycol, qu'on y ajoute un médicament, puis qu'on moule par la chaleur le produit thermoplastique ainsi obtenu sous forme de granulés, bâtonnets, capsules ou autres particules aptes à être administrées par toutes voies habituelles.

10. Utilisation des polymères I et copolymères II, suivant la revendication 1, pour fabriquer des implants et prothèses biodégradables utilisables en chirurgie.

11. Utilisation suivant la revendication 7, caractérisée par le fait qu'on fait réagir les polymères et copolymères I et II sous leur forme d'anhydride cyclique avec une substance susceptible de réagir avec les anhydrides et, partant, de se fixer par une liaison covalente sur lesdits polymères.

12. Utilisation suivant la revendication 11, caractérisée par le fait que ladite liaison covalente est biodégradable au lieu d'administration du polymère dans l'organisme.

13. Utilisation suivant la revendication 11, caractérisée par le fait que ladite substance réagit avec l'anhydride par l'intermédiaire d'une fonction amino, amido, hydroxy ou thichydroxy.

14. Utilisation suivant la revendication 10, pour la préparation d'implants ou prothèses d'os biodégradables, caractérisée par le fait qu'on constitue de telles prothèses d'hydroxyapatite liée par lesdits polymères I ou copolymères II.

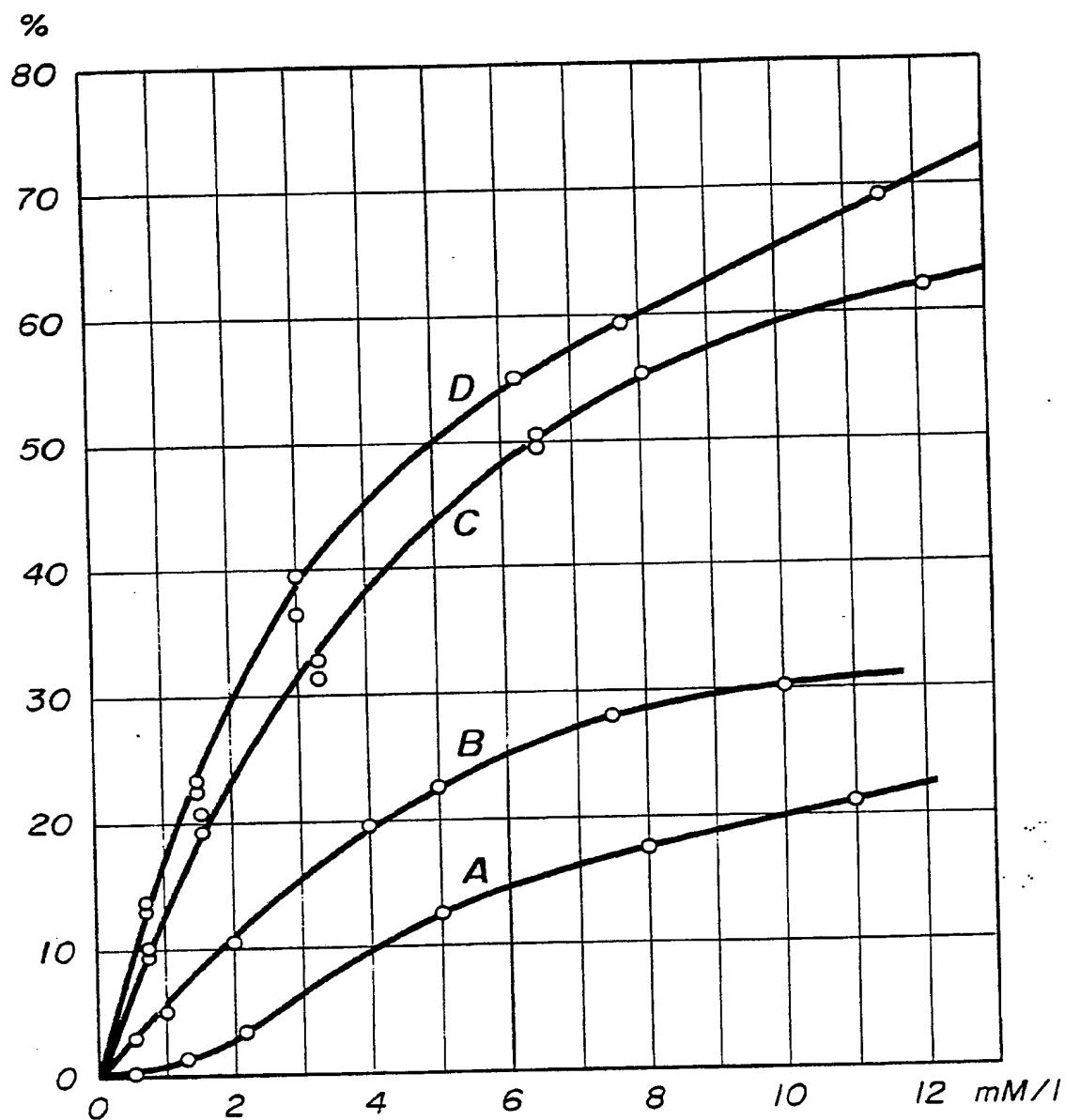
15. Utilisation des polymères I et copolymères II en tant que médicaments antiviraux et antitumoraux.

16. Procédé de préparation des polymères I et copolymères II suivant la revendication 1 où $m = 0$, caractérisé par le fait qu'on fait réagir un polyacide de formule $-(\text{NH-CH}[\text{C}(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}]-\text{CO-})_x$ IV, ou le copolyacide correspondant de formule $-(\text{NH-CH}[\text{C}(\text{CH})_n-\text{COOH}]-\text{CO-})_y(\text{NH-CHR'-CO-})_z$ V où n, x, y, z et R' ont le sens précité, avec un ester d'aminoacide de formule $\text{H}_2\text{N-CH}[\text{C}(\text{CH}_2)_p-\text{COOY}]-\text{COOY}$ III où p a le sens précité et Y désigne un alcoyle d'estérification en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC), de manière à obtenir les polymères I ou copolymères II sous forme estérifiée, puis qu'on soumet ces polymères-ester à une désalcoylation par hydrolyse ou hydrogénolyse catalysée de façon à les convertir en acides carboxyliques libres.

17. Procédé suivant la revendication 16 applicable au cas où $m \neq 0$, caractérisé par le fait qu'on utilise en place de l'ester III un diester de formule $\text{H}_2\text{N-CHR-CO-(NH-CHR-CO)}_m-\text{NH-CH}[\text{C}(\text{CH}_2)_p-\text{COOY}]-\text{COOY}$ VI où les R , identiques ou différents, ainsi que m , p , et Y ont le sens précité.

18. Procédé suivant la revendication 17, caractérisé par le fait que le diester de formule (VI) est obtenu par couplages successifs sur le diester III, en présence de DCC, d'aminoacides dont le NH_2 est temporairement désactivé par un groupe protecteur, par exemple benzyloxycarbonyl, ce groupe protecteur étant éliminé par déshydrogénération après chacun desdits couplages.

1/1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/CH 86/00177

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, Indicate all) ⁴

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl. ⁴: C 08 G 69/10; A 61 L 27/00; A 61 K 9/22; A 61 K 47/00

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ⁷

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl. ⁴	C 08 G; A 61 L; A 61 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT⁹

Category ¹⁰	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	WO, A, 85/00372 (BATTELLE) 31 January 1985 -- --	
A	US, A, 4356166 (PETERSON et al.) 26 October 1982 -- --	

- Special categories of cited documents: ¹⁰
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search

11 May 1987 (11.05.87)

Date of Mailing of this International Search Report

3 June 1987 (03.06.87)

International Searching Authority

European Patent Office

Signature of Authorized Officer

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON

INTERNATIONAL APPLICATION NO.

PCT/CH 86/00177 (SA 15419)

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 18/05/87

The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A- 8500372	31/01/85	EP-A, B 0130935 AU-A- 2698684 EP-A- 0150184	09/01/85 07/02/85 07/08/85
US-A- 4356166	26/10/82	None	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/CH 86/00177

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

4 C 08 G 69/10; A 61 L 27/00; A 61 K 9/22; A 61 K 47/00
CIB :

II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ

Documentation minimale consultée ⁸

Système de classification	Symboles de classification
CIB ⁴	C 08 G; A 61 L; A 61 K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁰

Catégorie ¹¹	Identification des documents cités, ¹¹ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹²	N° des revendications visées ¹³
A	WO, A, 85/00372 (BATTELLE) 31 janvier 1985 --	
A	US, A, 4356166 (PETERSON et al.) 26 octobre 1982 -----	

* Catégories spéciales de documents cités: ¹¹

- «A» document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- «E» document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- «L» document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- «O» document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- «P» document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- «T» document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- «X» document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive
- «Y» document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.
- «&» document qui fait partie de la même famille de brevets

IV. CERTIFICATION

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

11 mai 1987

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

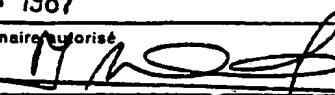
3 JUN 1987

Administration chargée de la recherche internationale

OFFICE EUROPEEN DES BREVETS

Signature du fonctionnaire autorisé

M. VAN MOL



ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE RELATIF

A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO. PCT/CH 86/00177 (SA 15419)

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche international visé ci-dessus. Lesdits membres sont ceux contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 18/05/87

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets	Date de publication
WO-A- 8500372	31/01/85	EP-A, B AU-A- EP-A-	0130935 2698684 0150184
US-A- 4356166	26/10/82	Aucun	

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)